腸内細菌の纖維素分解酵素に就いて

On the Cellulase of Bacteria isolated from
the human Intestine

國立榮養研究所

田 村 盈 之 輔

(E. Tamura)

1 緒 言

日本人食物は植物性食品が極めて多い。従つて、纖維素の攝取量の多いのは當然である。殊に、最近の食糧事情の悪化は日本人食内容の變遷を來し、主食の質的低下は副食のそれと相俟つて、纖維素、その他の不消化成分の攝取が從來より遙かに増加したと考えられる。纖維素は人體に攝取されても分解する消化腺分泌酵素は知られていないので、吸収利用の過程は無い。腸管内微生物の酵素により分解されて吸収せられ、一部は人體の榮養に役立つ可能性がある²⁾。又、纖維素は食物の容積を増すことに依り、満腹感を起し、或は腸の蠕動を適當に調節して、整腸の效があるも、量の多すぎるときは、消化管の負擔を重くし、消化液を浪費するのみでなく、蠕動を昂めることに依り、食物の腸管内通過を促進し、他の榮養成分の吸収を妨害する³⁾。尙、纖維素が腸内細菌の酵素に依り分解される場合には、この纖維素等に包まれた榮養成分が、消化液に觸れ分解されて吸収利用される事もある^{4) 5)}。即ち、食物中の纖維素は一定量は整腸の意味で必要であるが、特に多量をとる必要はなく、却て有害となることも考えられる。日本人を対象とする各種食品の消化吸收試験に於て、粗纖維の消化率は54~85%を示している^{6) 7)}。又、Weiske, Knieriem, Wicke, Mann, Bárány 等に依つても、各種植物性食品の粗纖維の消化率は最高62%を示し、Lorischに依れば、纖維素の消化率は、種々の野菜に依つて異り、最高100%を示している⁸⁾。此れは腸管の運動に依り、纖維素の微細化されることも考慮しなければならないが、主として腸内細菌の酵素に依り分解されるものと考えられる。従つてこの腸内細菌に依る纖維素分解或は纖維素分解細菌酵素の研究は消化榮養學上甚だ興味ある問題で、殊に野菜食の多い日本人については重要な研究課題である。

纖維素分解細菌に就いては1850年 Mitscherlichが水中に於て、細菌作用により馬鈴薯切片の分解されることを證明したに初る。以來多くの學者により、纖維素分解に關與する細菌に就いて觀察され、又特殊の培養基により、之が分離が試みられている。併しながら人體に關して、腸内細菌の纖維素分解作用に就いての報告は尠い^{10) 11) 12)}。Khouvine 女史, Causen, Hirschberg, 等の研究あるも、他は何れも、動物の消化管、土壤、堆肥、水等より分離された纖維素分解菌

についての研究である。文献に記載されている主なる纖維素分解細菌としては、次の如きものが挙げられている。即ち、嫌気性細菌としては *Bacillus amylobacter* (Van Tieghem)¹³⁾, *Bacillus fossicularum* L. et N., *Bacillus methanigenes* L. et N. (Omeliensky)¹⁴⁾, *Bacillus cellulose dissolvens* (Y. Khouvine)¹⁰⁾, *Clostridium cellobioparum* (Hungate)¹⁵⁾, *Clostridium wernerii* (Werner)¹⁶⁾, *Clostridium cellulosolvans* (Cowles, Rettger)¹⁷⁾, *Terminosporus thermocellulolyticus* (Pochon, Sarciron)¹⁸⁾, *Amylobacter navicula* (Causen)¹¹⁾, *Plectridium cellulolyticum* (Pochon)¹⁹⁾ 等で、好気性菌としては *Bacillus ferrugineus* (Van Iterson)²⁰⁾, *Micrococcus cytophagus*, *Micrococcus melanocyclus* (Merker)²¹⁾, *Cellulomonas biazotea*, *Cell. aurogenes*, *Cell. galba*, *Cell. cellasea*, *Cell. caesia*, *Cell. pusilla*, *Cell. gelida*, *Cell. uda*, *Cell. acidula* (Kellerman, McBeth, Scales, Smith)²²⁾, *Cellulomonas rossica*, *Cell. flavigena* (Kellerman, McBeth)²³⁾, *Cellulomonas flava* (Sack)²⁴⁾, *Cellulomonas bibula*, *Cell. liquata*, *Cell. fimi* (McBeth, Scales)²⁵⁾, *Cellulomonas iugis*, *Cell. gilva*, *Cell. alma*, *Cell. concitata*, *Cell. albida*, *Cell. desidiosa*, *Cell. idonea*, *Cell. lucrosa*, *Cell. castigata* (McBeth)²⁶⁾, *Cellulomonas folia* (Sanborn)²⁷⁾, *Microspira agar-liquefaciens* (Gray, Chalmers)²⁸⁾, *Actinomyces cellulose* (Krainsky)²⁹⁾, *Cellulofalciula viridis*, *Cellulofalciula mucosa*, *Cellulofalciula fusca* (Winogradsky)³⁰⁾, *Cellulobacillus mucosa*, *Cellulobacillus myxogenes* (Simola)³¹⁾, *Bacterium cellulolyticum flavum* (Horwitz, Wlassowa)³²⁾, *Cellovibrio ochraceus*, *Cellovibrio flavescens* (Winogradsky)³³⁾, *Cellovibrio fulvas*, *Cellovibrio vulgaris* (Stapp, Bortels)³⁴⁾, *Clostridium cellulosa* (Horwitz, Wlassowa)³⁵⁾, *Cytophaga hutchinsoni*, *Cytophaga aurantiaca*, *Cyt. rubra*, *Cyt. lutea*, *Cyt. tunissima* (Winogradsky)³⁶⁾, *Cytophaga globulosa*, *Cyt. silvestris*, *Cyt. anularis*, *Cyt. crocea*, *Cyt. flavicula* (Stapp, Bortels)³⁷⁾, *Cytophaga myxococcoides* (Krzemieniewska)³⁸⁾, *Methanobacterium söhngrenii*, *Methanobacterium omelienskii* (Barker)³⁹⁾, *Pseudomonas fibrolysis* (大谷)⁴⁰⁾, *Bacterium mesentericum hydrolyticum*⁴¹⁾ 等である。好熱性菌としては *Clostridium thermocellum* (Viljoen, Fred, Peterson)⁴²⁾, *Bacterium thermocellulolyticum* (Coalhaas)⁴³⁾, *Bacillus thermofibrinocolus* (板野, 荒川)⁴⁴⁾ 等である。又硝酸鹽還元細菌としては *Bacterium Opalescens*, *Bacterium viscosum* 等と *Bacterium Celloresolvens* の共棲作用 (Groenewege)⁴⁵⁾ が記載されている。細菌の纖維素分解酵素に就いては Pringsheim, Van Iterson, Karrer の研究があるが、人體腸内細菌に就いての報告は尠い。

著者は人體腸内細菌に就いての纖維素分解酵素の検討をする爲に、先ず準腸内細菌と見做され各種野生非病原性細菌に就いて、纖維素分解酵素の分布を見た。尙、人體腸内より分離された蒟蒻マンナン分解有芽胞腸内細菌に就いて同様の検討を行つた。次いで、人體腸内より、新に纖維素液化の強い好気性細菌を分離し、その纖維素分解酵素の検討を行つた。

2 各種非野生非病原性細菌の維素分解酵素の分布

(1) 實 驗 方 法

酵素液の調製：リービツヒ肉エキス 1.0g, ウイツテペプトン 1.0g, 第2磷酸カリ 1.0g, 溜水 100cc にて製した培養液 10cc 宛を試験管に分注し、常法に従つて滅菌す。この培養液に各種野生非病原性細菌の各 1白金耳を移植し、37°C の孵卵器に2日間納め、培養したるものにトルオール數滴加えたものを酵素液として使用する。

基質の調製：乾燥した市販の精製脱脂綿を用い、R. Willstätter 及び L. Zechmeister 氏の方法に依りヒドロセルローズを作つた。即ち脱脂綿 50g を濃鹽酸 (S. G. 1.22) に浸し、乳鉢にてすりつぶし、之を氷水中に冷却し乍ら、鹽酸ガスを數時間通じ、ガーゼにて濾す。濾過したものを水にて Cl 反應のなくなる迄水洗し、之を溜水に懸濁せしめて基質とした。このものは 1cc の乾量 34.83mg, 銅價 ⁴⁷⁾ 3.7, ヨード價 ⁴⁸⁾ 0.8 である。

定量方法：基質懸濁液 2cc を前記酵素液中に入れトルオール數滴を加えて振り、密栓して、37°C の孵卵器中に7日間納め、その中、反應液 5cc を取り、Schaffer-Hartmann 氏微量糖定量法 ⁴⁹⁾ に依り還元力を定量し、その還元力を葡萄糖 (mg) を以て表わした。

(2) 實 驗 成 績

各菌株に就いて行つた實驗成績は第1表の如くである。

第 1 表

菌	株	還元値	菌	株	還元値
		(mg)			mg)
Bacillus cereus	(大原研)	0.247	Bacillus petasites	(傳 研)	0.105
Bacillus fluorescens	(傳 研)	0.571	Bacillus subtilis	(醸 試)	0.319
Bacillus fluorescens	(京大微)	0.319	Bacillus subtilis	(京大微)	0.142
Bacillus liodermos	(千大微)	0.507	Acetobacter xylinus	(醸 試)	0.672
Bacillus megatherium	(傳 研)	0.344	Proteus vulgaris	(傳 研)	0.157
Bacillus mesent. fuscus	(東大農)	1.186	Proteus mirabilis	(傳 研)	0.357
Bacillus mesent. fuscus	(千大衛)	0.408	Proteus vulgaris	(京大微)	0.344
Bacillus mesent. fuscus	(傳 研)	0.558	Proteus zenkeri	(醸 試)	0.319
Bacillus mesent. niger	(醸 試)	0.837	Bacillus prodigiosum	(傳 研)	0.784
Bacillus mesent. ruber	(千大衛)	0.558	Bacillus prodigiosum	(京大微)	0.210
Bacillus mesent. ruber	(醸 試)	0.571	Bacillus prodigiosum coloiless	(傳研)	0.157
Bacillus mesent. ruber	(傳 研)	0.698	Bacillus prodigiosum	(北 大)	0.357
Bacillus mesent. vulgatus	(傳 研)	0.210	Pseudomonas fluorescens	(傳 研)	0.370
Bacillus mesent. vulgatus	(醸 試)	1.088	Micrococcus candicans	(醸 試)	0.902
Bacillus mesent. vulgatus	(京大微)	0.647	Micrococcus urae	(醸 試)	0.191
Bacillus pyocyaneum	(傳 研)	0.672	Vibrio saprochiles	(醸 試)	0.142
Bacillus pyocyaneum	(京大微)	0.461	Vibrio dentrificans	(傳 研)	0.306

(3) 總 括

ヒドロセルローズを用いて、各種野生非病原性細菌36株に就いて、纖維素分解酵素の分布を見た。何れの細菌にも多少の存在を證明し、供試細菌中にては *Bacillus mesent. fuscus* (東大農) が酵素が最も強く、*Bacillus mesent. vulgatus* (醸試) はこれに次ぐ作用を示した。その他 *Bacillus mycoides* (傳研), *Acetobacter xylinus* (醸試), *Bacillus prodigiosum* (傳研) *Micrococcus candicans* (醸試), *Micrococcus urae* (醸試) について何れも相當の纖維素分解酵素作用を認めた。

3 蒟蒻マンナン分解腸内細菌の纖維素分解酵素に就いて

(1) 實驗方法

供試細菌：井上博士が人體腸内より分離した蒟蒻マンナン分解腸内細菌⁵⁰⁾ 8株にして、その中 MA 10¹—1株は *Bac. natto* の類縁菌、MA10¹—2株は *Bac. mesent. ruber* の、MY10¹—1株は *Bac. subtilis* の何れも類縁菌にして、他の分類上何れの菌にも相當せざるものという。

酵素液の調製：前記腸内細菌を新に培養し、これを滅菌 K₂HPO₄ 加肉エキスブイヨン50cc を分注した三角コルベンにて2日間培養し、その培養液をベルケフェルド細菌濾過器にて濾過したる濾液を酵素液として使用した。

基 質：前記のヒドロセルローズ懸濁液を用いた。

定量方法：宮本及び西澤氏等の方法⁵¹⁾ に倣つて、基質懸濁液 1cc を試験管に採り、磷酸鹽緩衝液 (pH6.8) 2cc, 酵素液 1cc 宛を加え混合し、少量のトルオールを加え密栓し、37°Cの孵卵器中に納め、7日後にその全量を Schaffer-Hartmann 氏微量糖定量法にて、前記同様還元力を測定し、葡萄糖 (mg) を以て示した。

(2) 實驗成績

各菌種の纖維素分解酵素：各菌株の分泌纖維素分解酵素の強弱は第2表に示す如くである。

第 2 表

菌 株	還元値 (mg)	作用時間
TK 10 ² — 1	0.698	90
MY 10 ¹ — 4	0.477	〃
HS 10 ¹ — 2	0.532	〃
MA 10 ¹ — 1	0.596	〃
MS 10 ¹ — 2	0.685	〃
MS 10 ¹ — 1	0.591	〃
MA 10 ¹ — 2	0.507	66
MY 10 ¹ — 1	0.672	101

表に示す如く、TK10²—1株及び MS10¹—2

株が比較的強い纖維素分解酵素作用を示した。

至適pH：前記細菌の中酵素作用の最も強いTK10²—1株に就いて、至適pHを試験した。即ち4.0—7.2のMcIlveine 氏緩衝液を、前記の磷酸緩衝液の代りに加え、7日間37°Cの孵卵器に納めたものにつき、還元力を測定し、

第3表の結果を得た。

第 3 表

菌 株 \ pH	4.0	4.5	4.8	5.4	6.0	6.5	6.8	7.2
TK 0 ² -1	0.357 ^{mg}	0.370	0.493	0.609	0.810	1.023	1.145	0.660

表に示す如く pH6.8 に於て、最高還元力を認めた。

至適温度：TK10²-1 株に就いて、磷酸緩衝液 6.8 のものを用いて、纖維素分解酵素の至適温度を検し、その結果は第4表の如くである。

表に示す如く 37°C に於て、最高還元力を示した。

第 4 表

菌 株 \ 温 度	30°C	37°C	42°C
TK10 ² -1	1.088 ^{mg}	1.502	1.275

(3) 總 括

人體腸内より分離された蒟蒻マンナン分解腸内細菌8株の纖維素分解酵素作用を認め、その中、酵素作用の最も強い TK10²-1 株に就いて、その至適pH 6.8, 並に至適温度37°C なるを確めた。

4 腸内より分離せる好氣性細菌の纖維素分解酵素に就いて

(1) 被検者並に試料

被検者は總べて米飯を主食として、胃腸障碍を認めない健康男女4名である。腸内細菌の試料に就いては一般常法に従い、糞便細菌に就いて腸内細菌を検する方法を採つた。従つて嚴密に云えば糞便細菌である。勿論、糞便細菌は腸内細菌と異なるが、糞便細菌は腸内細菌の主要なるものである。糞便は滅菌シャーレに排便せしめて、可及的無菌的に採便した。被検者並に糞便の性状に就いては第5表に示す如くである。

(2) 纖維素液化菌の分離

腸内細菌より纖維素液化力強き好氣性菌を検索する爲に、豫め試験管中に長さ約 3cm, 幅約 0.5cm⁵²⁾の濾紙片を入れた McBeth⁵³⁾ 及び Dubos の培養基各 5cc の常法により滅菌したものに、新鮮糞便の1白金耳を移植し、37°C の孵卵器に納め、毎日軽く振盪し、濾紙片の液化の度を對照と比較した。その結果は第6表の如くである。

第 5 表

被検者	性	年 齡	糞 便 性 狀		
			硬 度	色 澤	臭 氣
A	女	35	普 通	黃 褐	異 臭
B	男	35	〃	〃	弱
C	女	24	軟	〃	〃
D	男	46	〃	〃	〃

液化は20日間に亘つて観察したが、濾紙片は何れの被検者の場合も液化したので、此の液の一部を採り、ペルトラン氏法により還元力を見たが、甚だ弱かつた。用いた培養基の組成は次の如くである。

第 6 表

被検者	培養基	McBeth	Dubos
A		卅	卅
B		卅	卅
C		卅	+
D		卅	卅

McBeth	培養基	MgSO ₄ · 7H ₂ O	1.0 g.	K ₂ HPO ₄	1.0 g.
		NaCl	1.0 g.	(NH ₄) ₂ SO ₄	2.0 g.
		CaCO ₃	2.0 g.	溜 水	1000.0 cc.
Dubos	培養基	NaNO ₃	0.5 g.	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.5 g.
		KCl	0.5 g.	FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.01 g.
		K ₂ HPO ₄	1.0 g.	溜 水	1000.0 cc.

McBeth 培養基にて濾紙片の液化を認めたものを、同培養基に2回繰返して植え、前同様の液化を確めた上、細菌の分離を試みた。即ち、液化培地をよく振り、その1白金耳を滅菌生理的食鹽水 5cc にうすめ、その0.01—0.02ccをMcBeth 寒天培養基に Drigalski 棒にて平等によく塗抹し、37°C の孵卵器中に3日間納め、平板上に出現した衆落中、肉眼的に異と思われるものを釣菌し、これをMcBeth 培養基に前同様に濾紙片を入れたものを滅菌したものに移植して、濾紙の液化を14日間に亘つて観察した。その結果は第7表の如くである。

第 7 表

菌 株	培養基	McBeth	Dubos
A ₁		—	—
A ₂		—	—
B ₁		+	+
B ₂		—	—
C ₁		—	—
C ₂		—	—
D ₁		—	—
D ₂		±	+

表に示す如く、濾紙の液化は分離前よりも悪い。各々分離された2種の細菌は、肉汁培養液中の硝酸鹽を還元する爲に、此の2種の細菌は Groenwege の云う共棲作用⁴⁵⁾をしないと考えられる。分離菌の中、液化菌2株に就いて一般細菌學的性狀並に纖維素分解酵素の性狀を検討した。

(3) 分離菌の一般細菌學的性狀

1) 一般生物學的性狀 菌の形態、グラム染色、運動に就いては、肉汁寒天斜面12—24時間培養のものに就いて検し、芽胞は同寒天斜面 24—36 時間培養のものに就いて検した。ラクムス牛乳培養基によつて凝固、脱色、消化に就いて検し、インドール反應は2%の照内ペプトン加肉汁培地の3日及び7日培養のものに就いて、Wallace and Neave 兩氏の Sulfanilic acid Dimethyl- α -naphthylamine⁵⁴⁾法にて検した。硫化水素發生は醋酸鉛紙を肉汁培養基の試験管内に吊し、綿栓にて支えて黒變するや否やを見た。その結果は第8表に示す如くである

第 8 表

菌 株	菌 形	運 動	大 き さ(μ)	グ ラ ム 染 色	芽 胞	牛 ラ ク ム ス 乳	ゼラチン		イン ド ール	還硝 酸 元鹽	硫 化 水 素
							液 化 度	液 化 形			
B ₁	桿 狀	+	1.74— 3.48× 0.92	+	+	輕 微 凝 固 (2日) 消 化 完	卅	層 狀	—	+	+
D ₂	桿 狀	+	4.06— 4.80× 1.16	+	+	輕 微 凝 固 (3日) 消 化 完	卅	層 狀	—	+	+

糖類發酵試験にはペプトン加肉汁培養液に可檢糖類を1%の割合に加え、その中に小試験管を倒立せしめたものを、常法に従つて滅菌し、分離菌を移植し、20日間に亘り酸並にガス發生の有無を檢した。指示薬としてはラクムスを用いた。可檢糖類としてはキシロース、グルコース、マンノース、フラクトース、サツカロース、デキストリン、澱粉、乳糖、イヌリン、マンニット、ズルチット、グリセリン等である。

以上の試験中、ゼラチン液化試験は 20°C にて行い、他は 36°C の孵卵器にて培養を行つた。その結果によれば、何れの菌株にても、酸發生又ガス發生を認めなかつた。

2) 各種培養基上に於ける性狀 培養基としては寒天培養基、馬鈴薯培養基及び肉汁培養基を用いた。寒天培養基にては平板塗沫培養、斜面劃線培養に就いて觀察した。その結果は第9,10表に示す如くである。

第 9 表

培養 菌株	培養		
	寒 天 平 板 塗 沫 培 養	寒 天 斜 面 培 養	寒 天 高 層 穿 刺 培 養
B ₁	圓形、灰白色、扁平、乾燥形、皮膜質、無光澤、半透明、粗像	最初絲狀、後樹枝狀、灰白色、稍々帶黃	線 狀
D ₂	圓形、灰白色、中央に圓形の原始衆落あり、それを取り圍み、半透明灰白色の皺をつくる中央に光澤あり、周邊無光澤、乾燥狀	最初絲狀、後樹枝狀、灰白色	線 狀

第 10 表

菌 株	肉 汁 培 養	馬 鈴 薯 培 養
B ₁	帶黃灰白色，薄皮，皺狀壁に沿つて上昇する，殆ど濁らない。	豐饒，良，灰白，少々纖細なる皺狀，粘質，培地を少々汚穢餘色とする，少々濕潤。
D ₂	灰白色，表面薄皮，皺狀壁に沿つて上昇する，液稍濁する。	豐饒，良，灰白，少々纖細なる皺狀，粘質，少々濕潤。

3) 分離細菌の既知細菌上の位置 分離細菌は2株ともに有芽胞性桿狀菌である。一般細菌學的性狀より菌形を判定すれば、⁵⁵⁾馬鈴薯菌に近似するも一致しない。

4) 分離菌の纖維素分解酵素の性狀

1) 基質の調製 ⁵⁵⁾炭酸銅 75g を含める溜水 250cc をNH₄ OH (S. G. 0. 90) 1L に混合溶解し、之に精製濾紙 15g を溶解し、溜水にて40倍に稀釋する。別に濃鹽酸 500cc を水10Lに加えたものを前記溶液 10L に徐々に混合すれば、纖維素は絮狀に沈澱する。此の沈澱を集め、Cu 及び Cl 反應のなくなる迄よく洗い、溜水に浮遊せしめたものを基質液とした。此の基質液の濃度は 0.47g/dl、銅價 ⁴⁷⁾1.62、⁴⁸⁾沃度價 2.67 である。

2) 酵素液の調製 纖維素分解酵素のうち細菌纖維素分解酵素の分離は未だ行われていない。⁵⁷⁾著者は菌體を自家融解せしめて酵素液とする方法を探つた。即ち、直徑 9cm のシャーレ 20枚に肉汁寒天培養液 15cc を入れ、常法に従つて滅菌したものに分離菌を植え、36°C の孵卵器に3—4日納め、その菌體を 50cc の溜水にて洗い集め、トルオールを加え、再び 36°C の孵卵器に24時間納めて、自家融解せしめた。自家融解液を遠心沈澱して、その上清を膀胱膜に入れて2日間透析したものを酵素液とした。この液は少々褐色を帯びた半透明の液である。

3) 定量方法 ⁵¹⁾宮本及び西澤氏等の方法に倣つて、基質液 1cc、酵素液 1cc、McIlveine 氏緩衝液 2cc を試験管に採り、トルオール數滴を加え、密栓して 36°C の孵卵器に7日間納め、その全液の還元力を Schaffer-Hartmann 氏微量糖定量法にて定量し、葡萄糖 (mg) を以て表した。

4) 至適溫度 分離菌の纖維素分解酵素の至適溫度を見る爲に、B₁ 株には pH5.8、D₂ 株には pH5.2 の McIlveine 氏緩衝液を用い、30°C、36°C、45°C の孵卵器を使用して、7日間前記方法により酵素を作用せしめて、全液の還元力を見た。その結果は第11表に示す如く、何れの菌株も 36°C で最強還元力を示した。

第 11 表

5) 至適 pH 分離菌の纖維素分解酵素の至適 pH を見る爲に pH 4.0—7.0 の系列の McIlveine 氏緩衝液を用いて、36°C の孵卵器にて 7 日間、前同様酵素液を作用せしめて、還元力を見たのに第12表に示す如くである。

菌 株 \ 温 度	30°C	36°C	45°C
B ₁ pH 5.8	0.182mg	0.220	0.142
D ₂ pH 5.2	0.073mg	0.115	0.077

表に示す如く B₁ 株にては pH5.8, D₂ 株にては pH5.2 の附近に至適 pH が存在する。

以後の實驗には、B₁株には pH 5.8, D₂ 株には pH5.2 の何れも McIlveine 氏緩衝液を用いた。

第 12 表

pH \ 菌株	4.0	4.6	5.2	5.8	6.4	7.0
B ₁		0.069 ^{mg}	0.082	0.175	0.086	0.088
D ₂	0.169 ^{mg}	0.204	0.282	0.255	0.182	0.121

6) 振盪の影響 分離菌の纖維素分解酵素に及ぼす振盪の影響を見る爲に、D₂ 株酵素液に就いて、36°C, 7日間、前同様に酵素を作用せしめ、その間毎日1—3回振盪し、その影響を見た。その結果は第13表に示す如く、3 回振盪したものが最強還元力を示した。

7) 中性鹽類の影響 分離細菌の纖維素分解酵素に及ぼす各種中性鹽類の影響を見る爲に、B₁, D₂ 株酵素液に各々 pH5.8, pH5.2 の McIlveine 氏緩衝液を加え、前記同条件のもとに酵素を作用せしめた。

第 13 表

同数 \ 菌株	0	1	3
D ₂	0.134 ^{mg}	0.238	0.279

陽イオン：試験せるイオンは1價イオン Na⁺, K⁺, Mg⁺⁺

で、總て鹽化物を用いた。反應液には 0.01M, 0.001M の濃度になる如く、中性鹽溶液 1cc を加えた。對照として溜水 1cc を加えたものと比較した。その結果は第14表に示す如くである。

第 14 表

鹽 濃 度 \ 菌 株	還 元 能 (mg 葡萄糖)							
	B ₁				D ₂			
	0 (對 照)	0.001M	0 (對 照)	0.01M	0 (對 照)	0.001M	0 (對 照)	0.01M
NaCl	0.117	0.215	0.279	0.263	0.086	0.142	0.278	0.287
KCl	0.117	0.240	0.279	0.247	0.086	0.067	0.278	0.292
MgCl ₂	0.117	0.265			0.086	0.086		

陰イオン：陽イオンの場合と同様の試験方法により Cl⁻, F⁻, J⁻, NO₃⁻, SO₄⁼⁼ の影響を見

た。而して、總てNa鹽を用いた。その結果は第15表に示す如くである。兩試験に於て0.001M濃度の鹽類に於ける試験は0.01M濃度の試験後7日を経て行つたもので、對照試験の還元能の差は、時日と共に酵素力の急速な減少を示している。

第 15 表

鹽 類	菌 株 濃 度	還 元 能 (mg 葡萄糖)							
		B ₁				D ₂			
		0 (對 照)	0.001M	0 (對 照)	0.01M	0 (對 照)	0.001M	0 (對 照)	0.01M
Na ₂ SO ₄		0.117	0.127	0.279	0.271	0.088	0.086	0.278	0.313
NaNO ₃		0.117	0.144	0.279	0.287	0.088	0.067	0.278	0.271
NaCl		0.117	0.215	0.279	0.263	0.088	0.142	0.278	0.287
NaJ		0.117	0.193	0.279	0.229	0.088	0.105	0.278	0.291
NaF		0.117	0.117	0.279	0.238	0.088	0.077	0.278	0.294

以上の結果より分離菌の纖維素分解酵素に及ぼす中性鹽類の影響は、試験せる各種鹽類に就いては、陽イオンに就いて、濃度0.01Mにては、兩菌株共に對照との差が認められないが、濃度0.001MにてはB₁株はNa⁺、K⁺、Mg⁺⁺共に、纖維素分解作用を少々促進するが、D₂株にてはNa⁺のみ少々促進し、他は對照と比し差が認められない。陰イオンに就いても、濃度0.01Mにては、兩菌株共に對照に比して大した影響は認められない。濃度0.001Mにては、兩菌株共にCl⁻のみが少々促進的作用ある傾向が認められ、他は對照と大差を認めない。

8) アミノ酸、ステアリン酸、グリセリン、スカトールの影響 腸内に於て各種のアミノ酸、脂肪酸、グリセリン、スカトール等の生ずる爲に、その纖維素分解作用に及ぼす影響を見た。即ち、アミノ酸としては、ロイシン、チロジン、グリココール、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸等にて、その他ステアリン酸、グリセリン、スカトール等を用いた。前記同様の作用條件にて、反應液に0.01Mになる如くアミノ酸水溶液を1cc加えたものを主實驗とし、溜水を加えたものを對照として試験し、比較した。但しチロジン、ステアリン酸、スカトール等は飽和液を用いた。その結果は第16表に示す如くである。

菌 株	還 元 能 (mg 葡萄糖)		菌 株	還 元 能 (mg 葡萄糖)	
	B ₁	D ₂		B ₁	D ₂
アミノ酸其他			アミノ酸其他		
ロ イ シ ン	0.220	0.125	グ ル タ ミ ン 酸	0.247	—
チ ロ ジ ン	0.277	0.306	ス テ ア リ ン 酸	0.220	0.142
グ リ コ コ ー ル	0.210	0.150	グ リ セ リ ン	0.210	0.157
ヒ ス チ ジ ン	—	0.134	ス カ ト ー ル	0.291	—
ア ス パ ラ ギ ン 酸	0.319	0.143	水	0.210	0.147

表に示す如く、纖維素分解作用に對して、B₁ 株にてはアスパラギン酸、チロジン、スカトールが對照に比して稍々促進的に作用し、他は何れも對照に比して大差が認められない。D₂ 株に就いてはチロジンが稍々促進的に作用する他は、前同様大差が認められない。

(5) 總括並に考察

健康男女 4 名の糞便より、纖維素液化力強き好氣性有芽胞細菌を分離し、その細菌學的一般性狀を検したのに、馬鈴薯菌に近似しているがこれと全く一致すると言えない。馬鈴薯菌の一種にて纖維素を分解する *B. mesent. hydrolyticus*⁴¹⁾ があるも、これとも異なる様である。又最近糞便中より *Acetobacter* を用いて生ずる纖維素膜を利用し、多數の纖維素分解菌が分離されている⁴¹⁾。

著者は分離細菌の纖維素分解酵素に就いて検討したのに、至適溫度 36°C にて、至適酸度は pH5.8 (B₁ 株)、又 PH5.2 (D₂ 株) の附近に存する様である。又 D₂ 株に就いて振盪の影響を見たのに 1 日 3 回以下では、3 回が最高の還元力を示した。これは主として基質の分散を起す爲であろう。中性鹽類の纖維素分解酵素に及ぼす影響を見るために、陽イオンとして Na⁺, K⁺, Mg⁺⁺, 又陰イオンとして、Cl⁻, J⁻, F⁻, NO₃⁻, SO₄⁼⁼ 等の纖維素分解作用に及ぼす影響をこれらを加えない對照と比較した。B₁ 並に D₂ 株ともに 0.01M の濃度にては、陰陽イオン共にその影響は對照に比して認められないが 0.001M の濃度に於ては、陽イオンにては Na⁺, K⁺, Mg⁺⁺, 又 D₂ 株にては Na⁺ が對照に比して分解作用を稍々促進すると思われる。陰イオンに就いては 0.001M の濃度にて、兩菌株共に Cl⁻ のみが稍々促進的に作用する結果となつた。各種のアミノ酸、即ち、チロジン、ロイシン、グリココール、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸等、又、ステアリン酸、グリセリン、スカトール等、腸内に生ずると思われるものの纖維素分解酵素に及ぼす影響を見たのに、B₁ 株にてはアスパラギン酸、チロジン、スカトール等、又 D₂ 株にてはチロジンが稍々促進的に作用する影響を示した。他は何れも對照と比して大差が認められない。

著者の分離菌の酵素液は、時日と共に酵素力は急速に弱くなる様である。又、分離菌より製した酵素液による纖維素の分解産物を見んとして、反應液より、葡萄糖又はセロビオースの檢出を行つたが成功しなかつた。

5 摘 要

1) 各種野生非病原性細菌 36 株に就いて、纖維素分解酵素の分布を見たのに、何れの細菌にも多少共存在し、特に *Bacillus mesgnt. fuscus* (東大農), *Bacillus mesent. vulgatus* (醸試) が酵素力強きが認められた。

2) 人體腸内より分離された菊蕈マンナン分解腸内細菌 8 株に就いて纖維素分解酵素を検し、その中、酵素力最も強き TK 10²-1 株に就いて、至適溫度 36°C, 至適 pH6.8 なるを認めた。

3) 健康男女4名の糞便より、纖維素液化力強き好氣性有芽細胞菌2株を分離し、その一般細菌學的性狀を検したのに馬鈴薯菌に近似するも一致しない。

4) 分離細菌を自家融解せしめて製した酵素液より、纖維素分解酵素の性狀を検した。

5) 分離菌の纖維素分解酵素の至適溫度は36°Cである。

6) 分離菌の纖維素分解酵素の至適酸度はB₁株にては pH5.8, 又D₂株にてはpH5.2である。

7) 分離菌の纖維素分解酵素に就いて、振盪の分解促進的影響のあるを認めた。

8) 分離菌の纖維素分解酵素に及ぼす中性鹽類の影響を見たのに、陽イオンにては B₁ 株に於ては、Na⁺, K⁺, Mg⁺⁺; 又 D₂ 株にては Na⁺ が少々促進的に作用し、陰イオンにては B₁ 並に D₂ 株共に Cl⁻ が少々促進的に作用する。

9) 分離菌の纖維素分解酵素に及ぼすアミノ酸、ステアリン酸、グリセリン、スカトール等の影響を検したのに、B₁ 株にてはアスパラギン酸、チロジン、スカトール、又、D₂ 株にてはチロジンが少々促進的影響を示した。

御懇篤な御指導並に御校閲を賜つた京大内野教授並に御校閲を賜つた榮研柳所長、井上部長に深謝する。尙實驗に助力を惜しまれなかつた長尾哲子、高居百合子兩氏に謝意を表する。

文 献

- 1) 公衆衛生院：食糧事情と栄養内容の變遷 (昭21). 2) Scheunert, A.: Ztschr. physiol. Chem. 48, 9 (1906). 3) 中川：栄養總論 36 (昭28). 4) Pringsheim, H.: Ztschr. physiol. Chem. 78, 266 (1912). 5) Neuberg, C., Cohn, R.: Biochem. Ztschr. 139, 528. (1923). 6) 田村, 田中, 佐々木：栄養學雜誌 2, 2—39 (昭18). 7) 井上, 田中：栄養學雜誌 3, 2—53 (昭18). 8) Schmidt, Ad.: Die Fäzes des Menschen 219 (1915). 9) Waksman: The principles of soil microbiology 190 (1927). 10) Khouvine, Mm Y.: Ann. inst. Pasteur 37, 711 (1923); Chem. Abst. 18, 281 (1924). 11) Causen, P.: Cent. Bakt. II, 84, 20 (1931). 12) Hirschberg, N.: Am. J. Digest. Dis. 9, 200 (1912); 醱酵工業外國文獻抄 1, 3—4 (昭23). 13) Van Tieghem, P.E.L.: Waksman, The principles of soil microbiology 191 (1927). 14) Omeliansky, W. L.: Cent. Bakt. II, 8, 353 (1902). 15) Hungate, R.E.: J. Bact. 48, 499 (1944). 16) Werner E.: Cent. Bakt. II, 67, 297 (1926), Bergey's manual of determinative bacteriology 785, 5th ed. (1939). 17) Cowles, P.B.: Rettger L. F.: J. Bact. 21, 167 (1931). 18) Pochon, J., Sarciron, R.: Compt. rend. 216, 219 (1943); 醱酵工業外國文獻抄 1, 6 (昭23). 19) Pochon: Ann. Inst. Pasteur, 55, 676 (1935); 小原：應用微生物學各論 205 (昭23). 20) Van Iterson, C.: Cent. Bakt. II, 11, 689 (1904). 21) Merker: Cent. Bakt. II, 31, 578 (1912). 22), 23), 24), 25), 26), 27); Bergey's manual of derminative bacteriology 5th ed. 487 1939). 28) Gray, P. H. H., Chalmers, C.H.: Ann.

- Appl. Biol. II, 324 (1924); Chem. Abstr. 19, 2512 (1925). 29) Krainsky: Cent. Bakt. II, 662 (1914); Bergey's manual of determinative bacteriology 5th ed., 851 (1939). 30) Winogradsky: Ann. Inst. Pasteur. 43, 549 (1929); Chem. Abstr. 24, 3309 (1930). 31) Simola, P.E.: Ann. Acad. Sci. Fenn. Ser. A 34, 1, 1; Chem. Abstr. 25, 4575 (1931). 32) Horwitz, Wlassowa: Cent. Bakt. Parasit. II, 93, 347 (1936); Chem. Abstr. 30, 3855 (1936). 33) Winogradsky: Bergey's manual of determinative bacteriology 5th ed., 118 (1939). 34) Stapp, Bortels: Cent. Bakt. II, 90, 42 (1934); Bergey's manual of determinative bacteriology 5th ed., 119 (1939). 35) Horwitz, Wlassowa: Cent. Bakt. II, 94, 240 (1936). 36) Winogradsky: Ann. Inst. Pasteur, 43, 578 (1929); Bergey's manual of determinative bacteriology 5th ed., 947 (1939). 37) Stapp, Bortels: Cent. Bakt. II, 90, 28 (1934); Bergey's manual of determinative bacteriology 5th ed., 948 (1939). 38) Krzeieniewska: Arch. Microb. 4, 394 (1933); 小原: 應用微生物學各論 207 (昭23). 39) Barker: Arch. Microb. 4, 394 (1933); 小原: 應用微生物學各論 207 (昭23). 40) 大谷: 醸造誌 7, 24 (昭4). 41) Hormann, S., Neuschul, P.; Biochem. Zs. 281, 219 (1935); Chem. Abstr. 30, 1085 (1936). 42) Viljoen, Fred, Peterson: J. agr. sci., 16, 1 (1926). 43) Cöolhaas, C.: Cent. Bakt. Parasit. II, 75, 344 (1928); Chem. Abstr., 23, 1152 (1929). 44) 板野, 荒川: 日農化 5, 816 (昭4). 45) Groenwege, J.: Med. Genesk. Lac. Weltevreden; Chem. Abstr., 15, 2720 (1921). 46) Karrer, P.; Oppeheimer, C., Die Fermente und ihre Wirkung I, 505 (1936). 47) Heyes, T. F.: J. Soc. Chem. Ind. 47, 90—2T (1928); 化學實驗學第2部 天然物取扱法 III, 401 (昭17). 48) Bertho-Grassmann: Biochemisches Practicum, 128 (1936). 49) Schaffer, P. A, Hartmann, A.F.: J. biol. chem. 45, 365 (1921). 50) 井上: 榮研報告 10, 2—1 (昭16). 51) 宮本, 西澤: 獸醫團報 336, 1 (昭17). 52) Kellermann-McBeth: Cent., Bakt. II, 34, 485 (1912). 53) Rene, J. Dubos: J. Bact., 15, 227 (1928). 54) Wallace, G. J., Neave, S. L.: J. Bact., 14, 377 (1927). 55) Bergey's manual of determinative bacteriology 5th ed. (1939). 56) Waksman: The principles of soil microbiology, 197 (1927). 57) Rudolf, Weidenhagen: Methoden der Fementforschung Lieferung 6, 1903 (1941).